文章编号：1007－4627(2009)01－0080－04

大功率电子加速器的辐射灭菌效果研究*

武振华[1,2]，张 红[1,2,#]，赵卫平[1,2]，薛林贵[3]，陈继栋[1,2]，陆锡宏[1]，张子民[1]

(1 中国科学院近代物理研究所，甘肃 兰州 730000；
2 甘肃省重离子束辐射医学应用基础重点实验室，甘肃 兰州 730000；
3 兰州交通大学化学与生物工程学院，甘肃 兰州 730070)

摘 要：在中国科学院近代物理研究所自行研制的大功率电子加速器上，研究了不同辐照剂量的电子束对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和变形杆菌3种微生物的杀灭效果，同时检测了辐照后菌体超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化。结果显示：辐照剂量达到2.0 kGy时，可完全杀灭金黄色葡萄球菌，2.2 kGy时可完全杀灭大肠杆菌和变形杆菌；辐照对3种微生物的SOD活性有较显著的影响。

关 键 词：微生物；电子加速器；电离辐射灭菌；剂量

中图分类号：Q691.5； Q937 **文献标识码**：A

1 引言

电离辐射灭菌起源于20世纪50年代，具有波长短、穿透力强、无污染、可机械操作、成本低、效率高、能大批量连续灭菌等优点，被认为是一种安全可靠的很有发展前途的新型消毒方法[1－3]。它属于冷灭菌，适用于热敏性物品，如塑料、生物组织和制品、忌热药品和食品等的消毒，一般不发生品质和质量的改变[1]。其灭菌机理主要是电离辐射使细菌体内的DNA和核酸、酶及蛋白质变性，导致其新陈代谢紊乱，繁殖受阻而死亡[4]。

为了探讨解决实验室常见器械和细胞培养基等出现的微生物污染问题，本研究利用中国科学院近代物理研究所自行研制的特大功率电子加速器对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和变形杆菌等3种常见微生物进行了不同的辐照处理，探讨它的辐射灭菌效果，以期为实验室器械和细胞培养基等的灭菌提供实验依据。

2 材料与方法

2.1 菌种及辐射源

大肠杆菌(*Escherichia.coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和变形杆菌(*Proteus vulgaris*)由兰州交通大学化学与生物工程学院薛林贵教授鉴定并馈赠，培养基采用普通的LB液体和平板固体培养基。

辐射源采用的是由中国科学院近代物理研究所自行研制的、已达到国际先进水平的特大功率电子加速器，能量1.2 MeV，束流60 mA[5]。

2.2 实验方法

3种微生物在28 ℃的恒温培养箱中，150 rounds/min振荡悬浮培养到对数生长期后，充分振荡并混匀，每个直径5 cm的培养皿中加入厚约2 mm的不同菌液，锡纸封口备用。除对照组外，实验组分别用1.0—2.5 kGy[2,6,7]的剂量进行辐照，然后取5 μl不同处理的细胞悬液均匀涂布于含有固体培养基的培养皿中，37 ℃恒温培养箱中继续培养，48 h后用平板菌落计数法检测细菌存活数；将3种微生物用LB液体培养基分别稀释10，50 和100倍，在电子加速器上进行不同剂量的辐照处理，用平板菌落计数法检测不同菌种菌液浓度对辐照灭菌的影响；2 000 rounds/min离心收集辐照处理后的细胞，PBS清洗，超声波破碎，4 000 rounds/min离心1 h，

* **收稿日期**：2008－04－22；**修改日期**：2008－05－19

* **基金项目**：国家自然科学基金资助项目(1075151)；甘肃省重大科技专项项目(O702NKDA045)；兰州市科技攻关项目(07-2-07)；中国科学院西部之光人才培养计划项目(O760160XB0)

作者简介：武振华(1974－)，男(汉族)，甘肃通渭人，硕士研究生，从事辐射生物学效应研究；E-mail：wuzhh@impcas.ac.cn

通讯联系人：张 红，E-mail：zhangh@impcas.ac.cn

上清用黄嘌呤氧化酶法测定超氧化物歧化酶(SOD)的活性[8]，SOD活性的具体检测过程及操作方法参照试剂盒说明书进行。以上每种处理均设3个平行样品。

2.3　统计学处理

各组实验都做两次重复，数据采用平均数±标准差($\bar{\chi}\pm s$)表示组间差异的显著性。用t检验方法进行统计学处理。

3　结果与分析

3.1　不同辐射剂量对3种菌的杀灭作用

3种微生物经1.0—2.5 kGy电子加速器辐照后，半对数坐标图显示，存活菌落数都大幅降低(图1)。当辐射剂量为1.8 kGy时，金黄色葡萄球

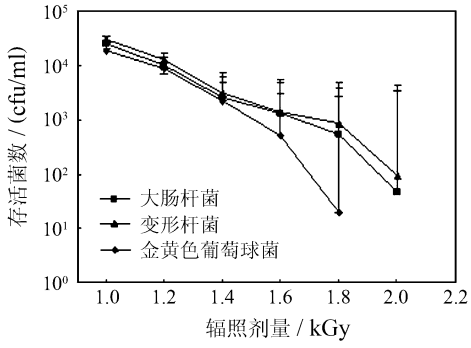

图1 不同辐射剂量对细菌的杀灭作用

菌的菌液在平板培养基上的平均菌数为(20±2) cfu/ml，而大于等于2.0 kGy时，未发现有存活的金黄色葡萄球菌菌落；当辐射剂量为2.0 kGy时，大肠杆菌和变形杆菌的菌液在平板培养基上的菌数分别为(46±2)和(94±3) cfu/ml，大于等于2.2 kGy时，也未发现有存活菌落。结果提示，电子加速器对3种微生物具有显著的杀灭作用。

3.2　不同菌种菌液浓度对辐射灭菌的影响

3种微生物用LB液体培养基分别稀释10，50和100倍，并在电子加速器上进行不同剂量辐射处理后，由图2可以看出，对3种微生物而言，完全杀灭的辐照剂量与菌液浓度的稀释倍数存在依赖关系(★$P<0.05$，★★$P<0.01$)，且稀释倍数越大，完全杀灭所需辐照剂量越小。

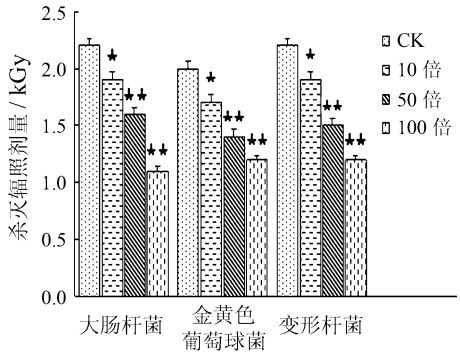

图2 不同菌种菌液浓度对辐照灭菌的影响

与不稀释的辐射对照组相比，★$P<0.05$，★★$P<0.01$。

3.3　不同辐射剂量对3种菌SOD活力的影响

超氧化物歧化酶SOD是一种具有抗辐射功能、能清除超氧离子的酶。本研究经电子加速器不同剂量的辐照后24 h内，把3种微生物离心处理，用黄嘌呤氧化酶法测定3种菌超氧化物歧化酶SOD的活性变化，每个处理为3个平行样品。由表1可以看出，3种微生物经电子加速器辐照处理以后，SOD的活力都有所降低。与不辐照的对照组相比较，辐照剂量小于1.2 kGy时，SOD活力变化差异不显著；当辐照剂量大于等于1.2 kGy时，3种菌的SOD活力都显著降低(a $P<0.05$，b $P<0.01$)。

表1　不同辐射剂量对3种菌SOD活力(u/ml)的影响*

剂量/kGy	大肠杆菌		金黄色葡萄球菌		变形杆菌	
	SOD	活菌数/(cfu/ml)	SOD	活菌数/(cfu/ml)	SOD	活菌数/(cfu/ml)
0	65.34±2.4	89 344±11	35.27±1.9	79 882±13	58.80±1.8	86 774±11
1.0	59.34±2.4	24 764±9	31.34±2.4	18 664±8	53.34±2.4	28 226±11
1.2	55.15±1.5[a]	10 532±7	27.85±1.3[a]	8 972±9	51.81±2.0[a]	12 832±7
1.4	42.23±1.2[b]	2 558±5	19.14±1.7[b]	2 648±6	42.32±0.9[b]	2 798±6
1.6	33.41±2.1[b]	1 364±7	16.37±0.9[b]	528±4	31.26±1.8[b]	1 432±6
1.8	26.13±1.2[b]	548±5	14.03±1.1[b]	20±3	24.48 ±0.9[b]	872±6
2.0	22.98±0.9[b]	86±2	13.77±0.7[b]	0	20.37±1.3[b]	94±3
2.2	17.19±1.4[b]	0	11.64±2.1[b]	0	15.56±0.8[b]	0

* 与不辐照的对照组相比，a $P<0.05$，b $P<0.01$。

4 讨论

随着科技革命和生物工程技术的飞速发展，辐射灭菌由于能杀死任何细菌和病毒且不残留放射性，越来越被研究者所重视，使用范围也正变得越来越广泛。目前已应用于食品、药物、医疗用品、化妆品等生产行业，被誉为当今世界科学研究的“新宠”。

本研究结果表明，电子束对3种微生物具有明显的杀灭作用，但3种微生物的杀灭剂量存在差异，这可能是由于种间差异，导致了不同的菌种对同一辐照源及同一辐照剂量的不同敏感性；也可能是由于不同菌种的最适生存条件不同，尽管都是在同一条件下培养生长，但它们的生理状态存在差异，导致不同菌种对同一辐照处理反应也不同。

菌液浓度是杀菌效果的重要影响因素[9]。在本研究中，3种微生物的杀灭辐照剂量都随着菌液浓度的降低而下降($\bigstar P < 0.05$，$\bigstar\bigstar P < 0.01$)。含菌量低时，较低的辐照剂量就可达到杀菌效果，含菌量高则需较高的辐照剂量才能达到灭菌的目的。本研究结果为大功率电子加速器辐照杀灭细菌时适宜菌液浓度的选择提供了一定的实验依据。

辐射能引起细胞内水的离解，形成活性氧自由基，攻击生物大分子。因此，活性氧自由基对生物的氧化损伤被认为是辐射损伤重要原因之一[10]。据报道，SOD具有抗辐射功能，能有效提高大肠杆菌的抗辐射能力[11]；细菌中的SOD具有较好的抗辐射作用[12,13]，被认为是生物体内对抗自由基的第一道防线[14]。本研究发现，与不辐照的对照组相比，辐照剂量小于1.2 kGy时，SOD活力变化差异不显著；当辐照剂量大于等于1.2 kGy时，3种菌的SOD活力显著降低(a $P < 0.05$，b $P < 0.01$)，这可能是由于辐射剂量较小时，SOD能较为有效地清除辐射产生的自由基，对细菌细胞具有一定的保护功能，但当辐射剂量达到一定程度时，辐射造成的损伤过重，SOD的抗辐射功能受到了限制所致。

参考文献(References)：

[1] Gu Dehong. China Journal of Public Health, 1989, 5(9): 37 (in Chinese).
(顾德鸿. 中国公共卫生, 1989, 5(9): 37.)

[2] Zhang Yinfa, Geng Yansheng, Yuanqia Kuangli. China Journal of Public Health, 1994, 10(11): 522(in Chinese).
(张印法, 耿彦生, 袁洽匡力. 中国公共卫生, 1994, 10(11): 522.)

[3] Shi Huidong, Chen Ronghui, Shen Junwei. Storage, Transportation & Preservation of Commodities, 2002, 4: 40(in Chinese).
(施惠栋, 陈荣辉, 沈军渭. 商品储运与养护, 2002, 4: 40.)

[4] Wu Zhenhua, Zhang Hong, Niu Bingtao, *et al*. Nuclear Physics Review, 2008, 25(4): 418(in Chinese).
(武振华, 张 红, 牛炳韬. 原子核物理评论, 2008, 25(4): 418.)

[5] Cao Shuchun, Li Zhongping, Zhang Ziming, *et al*. IMP and HIRFL Annual Report, 2007, 179.

[6] Zhang Zhaowen. China Pharmacy, 1998, 9(2): 87(in Chinese).
(张昭文. 中国药房, 1998, 9(2): 87.)

[7] Li Rongfen. Antisepsis and Sterilization, 1987, 4(3): 162(in Chinese).
(李荣芬. 消毒与灭菌, 1987, 4(3): 162.)

[8] Benoy L T, Beyer W F, Stevens R D, *et al*. Free Radical Biology & Medicine, 1996, 21(1): 117.

[9] Huang Xunduan, Pan Jian, Xie Huiming, *et al*. Food Science, 2007, 28(2): 169(in Chinese).
(黄训端, 潘 见, 谢慧明等. 食品科学, 2007, 28(2): 169.)

[10] Tian Bing, Zhang Zhaowen, Xu Zhenjian, *et al*. Acta Microbiologica Sinica, 2006, 46(2): 238(in Chinese).
(田 兵, 张韶文, 许镇坚等. 微生物学报, 2006, 46(2): 238.)

[11] Deng Tingting, Li Jing, Ma Gen, *et al*. Journal of Sichuan University(Natural Science Edition), 2007, 44(1): 176(in Chinese).
(邓婷婷, 李 静, 马 根等. 四川大学学报(自然科学版), 2007, 44(1): 176.)

[12] Cao Hanmin, Hu Tianxi, Hua Yan, *et al*. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 1990, 8(1): 1(in Chinese).
(曹汉民, 胡天喜, 华 燕等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1990, 8(1): 1.)

[13] Biemelt S, Keetman U, Grimm B, *et al*. Plant Cell and Environment, 2000, 23: 135.

[14] Zhu Wenjie, Hong Yanping, Huang Ning, *et al*. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 1996, 2(1): 79 (in Chinese).
(朱文杰, 洪燕萍, 黄 宁等. 应用与环境生物学报, 1996, 2(1): 79.)

Study on Radiation Sterilization of Electron Beam Accelerator*

WU Zhen-hua[1,2], ZHANG Hong[1,2,#], ZHAO Wei-ping[1,2], XUE Lin-gui[3],
CHEN Ji-dong[1,2], LU Xi-hong[1], ZHANG Zi-min[1]

(1 *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou* 730000, *China*;
2 *Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Medicine of Gansu Province, Lanzhou* 730000, *China*;
3 *School of Chemistry and Bioengineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou* 730070, *China*)

Abstract: To study the effects of radiation sterilization of the electron beam, the three species of microorganisms, *Escherichia. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Proteus vulgaris* were irradiated with the electron beam, delivered by the electron accelerator independently developed by the Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, and the changes of superoxide dismutase (SOD) activity of these irradiated microorganisms were also tested. The results indicated that the *Staphylococcus aureus* were fully radio-sterilized with the radiation dosage of 2.0 kGy, but 2.2 kGy to the *Escherichia. coli* and *Proteus vulgaris*. Moreover, the data also demonstrated that the irradiation had noticeable effects on the SOD activity of the three microorganisms.

Key words: microorganism; electron beam accelerator; sterilization by ionizing radiation; dosage

* **Received date**: 22 Apr. 2008; **Revised date**: 19 May 2008

* **Foundation item**: National Natural Science Foundation of China(1067515); Scientific Techology Research Project of Gansu Province(O702NKDA045); Lanzhou Programs for Science and Technology Development(07-2-07); Western Light Talents Training Program of Chinese Academy of Sciences(O760160XB0)

Corresponding author: Zhang Hong, E-mail: zhangh@impcas.ac.cn